



Новые аспекты влияния факторов иммунитета и микробиома на реакции отторжения трансплантированного сердца

Головкин А. С.¹, Кудрявцев И. В.^{1,2}, Федотов П. А.¹, Калинина О. В.¹

В настоящее время трансплантация сердца является основным способом лечения пациентов с терминальной стадией сердечной недостаточности. В то же время иммунопатогенез реакций развития хронического отторжения аллотрансплантата, которое является ключевым фактором долгосрочного результата лечения, до сих пор остается малоизученным, что, в свою очередь, обуславливает отсутствие неинвазивных эффективных методов его детекции. В обзоре рассматриваются актуальные аспекты взаимодействия микробиоты и факторов иммунной системы, приводящие к развитию воспаления и поляризации Т-клеточного ответа, их участие в реакциях отторжения трансплантированного сердца. Отдельное внимание уделяется роли микровезикул в модулировании иммунного ответа в реакции отторжения аллотрансплантата сердца.

Ключевые слова: трансплантация сердца, микробиота, поляризация Т-клеточного ответа, микровезикулы.

Отношения и деятельность. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 19-75-20076).

¹ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова, Санкт-Петербург; ²Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия.

Головкин А. С. — д.м.н., руководитель группы генно-клеточной инженерии Института молекулярной биологии и генетики, профессор кафедры биологии Института медицинского образования, в.н.с. НИЛ аутоиммунных и аутовоспалительных заболеваний НЦМУ "Персонализированная медицина", ORCID: 0000-0002-7577-628X, Кудрявцев И. В. — к.б.н., зав. лаборатории иммунорегуляции отдела иммунологии, зав. НИЛ аутоиммунных и аутовос-

спалительных заболеваний НЦМУ "Персонализированная медицина", ORCID: 0000-0001-7204-7850, Федотов П. А. — к.м.н., в.н.с., зав. лаборатории высокотехнологичных методов лечения сердечной недостаточности, доцент кафедры внутренних болезней Института медицинского образования, ORCID: 0000-0002-7452-1971, Калинина О. В.* — д.б.н., декан факультета биомедицинских наук Института медицинского образования, в.н.с. НИЛ аутоиммунных и аутовоспалительных заболеваний НЦМУ "Персонализированная медицина", ORCID: 0000-0003-1916-5705.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): olgakalinina@mail.ru

ВВ — внеклеточные везикулы, мРНК — матричная РНК, ТС — трансплантация сердца, ФК — функциональный класс, ХСН — хроническая сердечная недостаточность, IL — интерлейкин, МНС — главный комплекс гистосовместимости, TNF — фактор некроза опухоли, Th — Т-хелпер.

Рукопись получена 08.12.2021

Рецензия получена 15.02.2022

Принята к публикации 17.02.2022



Для цитирования: Головкин А. С., Кудрявцев И. В., Федотов П. А., Калинина О. В. Новые аспекты влияния факторов иммунитета и микробиома на реакции отторжения трансплантированного сердца. *Российский кардиологический журнал*. 2022;27(8):4806. doi:10.15829/1560-4071-2022-4806. EDN AVECXD

New aspects of the influence of immunity and microbiome on heart transplant rejection

Golovkin A. S.¹, Kudryatsev I. V.^{1,2}, Fedotov P. A.¹, Kalinina O. V.¹

Currently, heart transplantation is the key treatment for patients with end-stage heart failure. At the same time, the immunopathogenesis of chronic allograft rejection, which is a key factor in the long-term outcome, is still poorly understood, which, in turn, explains the absence of effective non-invasive methods for its detection. This review discusses up-to-date aspects of the interaction between the microbiota and immune system factors leading to inflammation and T-cell polarization, and their participation in heart transplant rejection. Special attention is paid to the role of microvesicles in immune response modulation within heart transplant rejection.

Keywords: heart transplantation, microbiota, T-cell response polarization, microvesicles.

Relationships and Activities. The study was supported by a grant from the Russian Science Foundation (№ 19-75-20076).

¹Almazov National Medical Research Center, St. Petersburg; ²Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia.

Golovkin A. S. ORCID: 0000-0002-7577-628X, Kudryatsev I. V. ORCID: 0000-0001-7204-7850, Fedotov P. A. ORCID: 0000-0002-7452-1971, Kalinina O. V.* ORCID: 0000-0003-1916-5705.

*Corresponding author: olgakalinina@mail.ru

Received: 08.12.2021 **Revision Received:** 15.02.2022 **Accepted:** 17.02.2022

For citation: Golovkin A. S., Kudryatsev I. V., Fedotov P. A., Kalinina O. V. New aspects of the influence of immunity and microbiome on heart transplant rejection. *Russian Journal of Cardiology*. 2022;27(8):4806. doi:10.15829/1560-4071-2022-4806. EDN AVECXD

Благодаря достигнутым успехам в вопросах трансплантации сердца (ТС) и возможностям современной иммуносупрессивной терапии, медиана выживаемости у взрослых пациентов составляет 14 лет. Вместе с тем, очевидно, что требуется дальнейшее

совершенствование методов лечения с целью улучшения долгосрочных эффектов трансплантации. Основной причиной смерти и худшего прогноза являются инфекции, развитие хронического и кризы острого отторжения трансплантата [1].

Имеющиеся в настоящее время методы диагностики реакций отторжения трансплантата основаны на детекции уже запущенного процесса с наличием необратимых морфологических изменений. Кроме того, даже для констатации таких изменений требуется проведение инвазивной процедуры — биопсии тканей трансплантированного сердца [2]. Таким образом, уже сейчас имеется острая потребность в неинвазивных методиках диагностики развития реакций отторжения трансплантата, которые позволили бы продлить сроки функционирования трансплантированного органа, а значит, увеличить продолжительность жизни и повысить качество жизни реципиентов.

Вклад микробиоты в развитие воспаления, созревание и поляризацию Т-клеток

Установлено, что микробное сообщество играет важную роль в поддержании местного гомеостаза, модулирует активацию и дифференцировку некоторых популяций лимфоцитов, в т.ч. Т-хелперов (Th), выработку иммуноглобулина А и антимикробных пептидов, способствует развитию лимфоидных структур, влияет на свойства слизистого слоя желудочно-кишечного тракта, физиологию и метаболизм хозяина [3]. Микрофлора кишечника условно здоровых индивидуумов обычно состоит из различных представителей *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Fusobacteria*, *Proteobacteria* и *Verrucomicrobia* [4]. В пределах тонкого кишечника преобладают *Enterobacteriaceae* и *Lactobacillaceae*, тогда как в толстой кишке содержатся представители *Bacteroidaceae*, *Lachnospiraceae*, *Prevotellaceae*, *Rikenellaceae* и *Ruminococcaceae*.

При изучении влияния нормального состава микробиоты кишечника на факторы адаптивного иммунитета было установлено, что состав микробиоты может быть тесно связан с субпопуляционным составом циркулирующих в крови Th [3]. Кластеризация микробиоты кишечника условно здоровых добровольцев выявила три энтеротипа: в первом энтеротипе доминировали бактерии рода *Bacteroides*, во втором — *Prevotella*, третий энтеротип отличался от первых двух большим разнообразием на основе индекса Shannon и тенденцией к доминированию представителей семейства *Ruminococcaceae* [3]. У добровольцев с кишечным энтеротипом 3 (доминирование *Ruminococcaceae*) отмечалось значительное снижение уровня циркулирующих Th17 и Th22 клеток, тогда как у лиц с кишечным энтеротипом 1 (доминирование *Bacteroides*) наблюдалось увеличение уровня Th17.1 клеток [3]. В *in vivo* исследованиях, проведенных на гнотобиотических мышах, было показано, что только некоторые комменсальные бактерии, например, сегментированные нитчатые (филаментные) бактерии (SFB, от англ. “segmented filamentous bacteria”, некультивируемые *Clostridia-related species*),

могут модулировать Т-клеточный ответ слизистых оболочек у иммунокомпетентных мышей, индуцируя дифференцировку Th0 в сторону Th17, или Th1, Th2 [5]; дифференцировку популяции CD4+ Т-клеток, синтезирующих во время воспаления кишечника провоспалительный цитокин интерлейкин (IL)-22, который играет важную роль во взаимодействии между клетками иммунной системы и клетками в некоторых тканях, регулируя регенерацию тканей и противомикробный иммунитет [6]; а также активировать постнатальное развитие изолированных лимфоидных фолликулов и третичной лимфоидной ткани, которые заменяли Пейеровы бляшки при формировании SFB-специфичных Th17 клеток у мышей [7].

Эксперименты *in vivo* на мышах, сенсибилизированных к овальбумину, продемонстрировали, что пероральное введение животным *Bifidobacteria* сопровождалось снижением количества Th2 клеток на фоне увеличения регуляторных Т-лимфоцитов (Treg) и клеток, синтезирующих противовоспалительный цитокин IL-10, как на системном уровне (в селезенке), так и локально (в клетках, инфильтрирующих подслизистую кишечника), улучшая нарушенную функцию эпителиального барьера [8]. Еще одним механизмом, связанным с подавлением дифференцировки эффекторных Th клеток (особенно Th1 и Th2) и снижением уровня синтезируемых ими провоспалительных цитокинов, может служить активация аденозиновых A₂A рецепторов бактериями *Lactobacillus reuteri* [9]. Ремоделирование микробиоты у SF (от англ. “scurfy”) мышей, несущих мутацию в гене *Foxp3*, с помощью пробиотика *Lactobacillus reuteri* повысило выживаемость и уменьшило полиорганное воспаление у мышей SF, т.к. *Lactobacillus reuteri* меняло метаболомный профиль, нарушенный дефицитом регуляторных Т-лимфоцитов, в результате чего наблюдалось восстановление уровня пуринового метаболита инозина, обладающего иммуномодулирующим действием на клетки иммунной системы [9].

Особый интерес в качестве факторов, регулирующих реакции воспаления, представляют представители комменсальной микробиоты человека, которые потенциально способны к транслокации и могут вызывать патологические процессы при ослаблении иммунитета. Например, проникновение *Bacteroides fragilis* через базальную мембрану эпителиоцитов сопровождается активацией воспалительных процессов, тогда как его локализация в просвете кишки способствует дифференцировке и активации Treg, приводящих к снижению воспалительных реакций на слизистых [10]. Показано, что взаимодействие именно полисахарида А (PSA) *Bacteroides fragilis* с TOLL-подобным рецептором 2 типа (TLR2) активирует противовоспалительную функцию Foxp3(+)

Treg, способствуя формированию иммунологической толерантности к собственной микробиоте кишечника и поддержанию гомеостаза, тогда как *Bacteroides fragilis*, лишённые PSA, вызывают преимущественное формирование Th17 клеток и развитие воспалительного ответа у мышей [11]. На модели экспериментального колита, вызванного введением лабораторным животным *Helicobacter hepaticus*, было показано, что применение как *Bacteroides fragilis*, так и очищенного полисахарида А, обеспечивало выраженный протективный эффект, связанный со снижением продукции провоспалительного цитокина IL-17, а также формированием IL-10-синтезирующих CD4⁺ Т-лимфоцитов [12].

Одним из важнейших противовоспалительных действий комменсальной микробиоты кишечника является подавление продукции ключевых провоспалительных цитокинов, таких как IL-17 и IL-23, а также IL-1 β и IL-6. Так, в трехмерной культуральной модели (3D coculture model composed of human intestinal HT-29/B6 or T84 cells and PBMCs) было показано, что *Bifidobacterium breve* обладают противовоспалительным действием в кишечнике, подавляя экспрессию провоспалительных цитокинов IL-17, IL-23, CD40, за счет подавления ацетилирования гистонов и повышения метилирования ДНК, что, в свою очередь, приводит к ограничению активации транскрипции, опосредованной NF- κ B [13]. Введение *L. acidophilus* мышам, у которых было индуцировано развитие колита с использованием 1,5% натрия декстран сульфата (DSS), подавляло опосредованную клетками Th17 секрецию провоспалительного цитокина IL-17 за счет подавления экспрессии IL-23 и трансформирующего фактора роста- β 1, которые играют важную роль в дифференцировке Th17 клеток, и последующего фосфорилирования p-STAT3 [14]. При введении мышам с индуцированным колитом пробиотика, содержащего семь различных видов комменсальных бактерий (бифидобактерий, лактобактерий и *S. thermophilus*) было отмечено выраженное снижение уровня воспаления в кишечнике за счет снижения продукции провоспалительного цитокина IL-6 [15].

Изменения в составе микробиоты кишечника могут быть связаны с развитием различных патологических состояний в разных органах и тканях, в т.ч. иммуноопосредованных заболеваний. У пациентов с впервые диагностированным ревматоидным артритом, которые еще не получали какой-либо терапии, в просвете кишки содержание бактерий рода *Prevotella* было увеличено относительно контрольной группы, тогда как *Bacteroides* были достоверно ниже. При этом установлена статистически достоверная корреляция между присутствием вида *Prevotella copri* и наличием ревматоидного артрита (обнаружены у 75% пациентов с ревматоидным артритом по срав-

нению с 21% в группе контроля) [16]. Немаловажен и тот факт, что на мышинной модели коллаген-индуцированного артрита показано, что комплексное применение пробиотиков (совместно с солями цинка и коэнзима Q10) на организменном уровне сопровождалось снижением уровней воспаления суставов, а также замедлением процессов разрушения костей и повреждения хрящевой ткани, более того, у животных наблюдалось снижение экспрессии провоспалительных цитокинов: фактор некроза опухоли (TNF)- α , IL-1 β , IL-6 и IL-17 на фоне уменьшения процентного содержания Th17 и повышения уровня Treg клеток [17].

Микробиота кишечника у пациентов с хронической сердечной недостаточностью

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) приводит к мультисистемным изменениям, в частности, энтеропатии, при которой изменяется морфология эпителия кишечника, а также проницаемость и абсорбция [18]. Повышенная адгезия условно-патогенных бактерий к эпителию кишечника и увеличение бактериальной пленки может вызвать рост уровня экспрессии провоспалительных цитокинов, нарушение целостности эпителиального барьера и, как следствие, проникновение микробных метаболитов или самих бактерий в системный кровоток, обуславливая развитие хронического воспаления, что, в свою очередь, является потенциальным фактором прогрессирования сердечной недостаточности [18].

Для пациентов с ХСН III-IV функционального класса (ФК) характерно уменьшение β -разнообразия микробиоты толстой кишки, более высокий уровень эндотоксемии, системного воспаления и окислительного стресса по сравнению с пациентами с ХСН I-II ФК [19]. У всех пациентов с ХСН независимо от ФК отмечалось заметное истощение фило типа *Bacteroidetes*, однако никаких различий в относительной численности фило типов между категориями пациентов не наблюдалось [19]. В другом исследовании у больных со сниженной фракцией выброса из-за ишемической или дилатационной кардиомиопатии снижение бактериального разнообразия было вызвано значительным истощением бактериальных родов *Blautia* и *Collinsella*, а также уменьшением количества представителей рода *Faecalibacterium*, продуцирующих бутират, который является основным источником энергии для эпителиальных клеток кишечника [20]. Поскольку превалирование рода *Collinsella* ранее было ассоциировано с сахарным диабетом 2 типа и атеросклерозом, авторы предполагают, что истощение данного рода может быть характерным именно для пациентов с сердечной недостаточностью. В свою очередь, отдельное внимание привлекают комменсальные бактерии рода *Blautia*, которые могут

опосредовать противовоспалительные механизмы, их доминирование в составе кишечной микробиоты пациентов после аллогенной трансплантации костного мозга было ассоциировано с уменьшением смертности и улучшением общей выживаемости при развитии реакций “трансплантат против хозяина” [21].

Вклад микробиоты в развитие реакций отторжения трансплантированного сердца

В последние годы все больше внимания уделяется изучению факторов микробиоты, потенциально вовлеченных в развитие реакций “трансплантат против хозяина” после трансплантации печени, почек, тонкой кишки, трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, при этом исследования в области ТС единичны.

В экспериментах на мышинной модели по ТС было показано, что микробиом кишечника влияет на выживаемость сердечного аллотрансплантата посредством модуляции врожденной и адаптивной иммунной системы [22]. В частности, введение фекальной микробиоты, обогащенной *Bifidobacterium pseudolongum*, мышам после ТС было связано с более длительным сроком жизни аллотрансплантата сердца и меньшим воспалением и фиброзом, в то время как введение фекальной нормальной микробиоты мышей или фекальной микробиоты мышей с колитом приводило к худшей выживаемости и ухудшению гистологического состояния аллотрансплантата сердца. Кроме того, стимуляция дендритных (JAWSII DC) и макрофагальных (RAW264.7) клеточных линий *Bifidobacterium pseudolongum* индуцировала продукцию противовоспалительного цитокина IL-10 и гомеостатического хемокина CCL19, и значительно в меньшем количестве провоспалительных цитокинов TNF- α и IL-6, тогда как липополисахариды и бактерия *Desulfovibrio desulfuricans*, доминирующая в составе микробиоты мышей с колитом, индуцировали более воспалительный цитокиновый ответ [22]. Дальнейший анализ выявил диаметрально влияние *Bifidobacterium pseudolongum* и *Desulfovibrio desulfuricans* на структуру кортикального слоя лимфатического узла: *B. pseudolongum* индуцировала соотношение ламинина $\alpha 4/\alpha 5$ кортикального слоя, ассоциированное с подавлением и толерантностью, в то время как *D. desulfuricans* индуцировала соотношение ламининов $\alpha 4/\alpha 5$, связанное с воспалением и отторжением аллотрансплантата. Таким образом, очевидно, что популяционный состав микробиоты может значимо влиять на развитие реакций отторжения аллотрансплантата и аллоиммунитет посредством широкого воздействия на местном, региональном и системном уровнях на факторы врожденного и адаптивного иммунитета [22].

Несмотря на восстановление физического и социального функционирования пациентов после ТС,

у больных наблюдается лишь незначительная динамика восстановления состава микробиоты кишечника и уменьшения маркеров системного воспаления (С-реактивный белок, IL-6, TNF- α и адипонектин эндотелин-1) и окислительного стресса (изопростан), при этом биомаркеры эндотоксемии (липополисахарид и растворимый sCD14) сохраняются на прежнем уровне [19]. Отмечается, что накопление в плазме крови пациентов после ТС метаболита γ -бутиробетаина, метаболизм которого частично опосредован микробиотой кишечника (microbiota-dependent carnitine- γ -butyrobetaine-trimethylamine N-oxide pathway), ассоциировано с более высокой частотой кризов острого отторжения и увеличением общего объема атеромы коронарных артерий пересаженного сердца [23].

Таким образом, мониторинг состава микробиома кишечника в перитрансплантационном периоде может являться потенциально важным суррогатным маркером отсроченных осложнений после трансплантации, а воздействие на микробиом может помочь достичь лучших результатов в повышении выживаемости реципиентов [24]. В настоящее время недостаточно данных о дополнительных факторах, влияющих на микробиоту и изменение иммунологического статуса пациента при проспективном наблюдении до и после операции с параллельной оценкой таких факторов, как возраст, вес, образ жизни и диета реципиента.

Влияние факторов иммунитета на реакции отторжения трансплантатов

Распознавание аллогraftа иммунной системой реципиента, равно как и последующие реакции отторжения трансплантата, являются ключевыми аспектами для изучения современной трансплантологией, т.к. открывают перспективы терапии угрожающих состояний у этой категории пациентов. Отторжение трансплантата опосредуется Т-лимфоцитами во вторичных органах иммунной системы реципиента. Там же происходит распознавание молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС, от англ. “major histocompatibility complex”). Распознавание аллоантигенов Т-клетками может происходить прямым и непрямым путями [25]. При прямом распознавании Т-клетки взаимодействуют с аллогенными МНС белками, присутствующими на поверхности донорских клеток [25]. Непрямой путь опосредуется Т-клетками, распознающими пептиды, полученные от донорских МНС и малых антигенов, которые процессированы и представлены в ассоциации с собственными МНС молекулами антиген-презентирующими клетками реципиента [2, 25]. Активации Т-лимфоцитов приписывается дальнейшая миграция донорских антигенов от профессиональных антиген-презентирующих клеток к лимфоидным тканям

реципиента и непосредственно коммуникация последних с эффекторными Т-лимфоцитами [26]. В то время как прямой путь является движущей силой острой реакции отторжения аллографта, непрямая Т-клеточная аллореактивность приводит к продукции аллоантител и хронической реакции отторжения, ассоциированной с васкулопатией трансплантата и фиброзом тканей [27, 28]. Таким образом, как в случае острой реакции, так и в случае хронического отторжения аллотрансплантата, пусковым является презентация антигена Т-клеткам.

В настоящее время активно изучается роль субпопуляций Th, включая Th1, Th2, Th9, Th17, Th22, субпопуляции фолликулярных Th и Treg, которые взаимно регулируют друг друга, в реакциях отторжения трансплантатов.

Предполагается, что активированные Th2 клетки, которые являются функциональными “антагонистами” Th1 и способны снижать эффективность поляризации Th0 в сторону Th1, могут подавлять реакции острого отторжения трансплантата, но могут при этом принимать активное участие в реакциях хронического отторжения [29]. В экспериментах на мышах было показано, что стимуляции ответа, опосредованного Th2 клетками, блокировала формирование CD8⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов и заметно замедляла отторжение кожных аллотрансплантатов, но вызывала *de novo* хроническое отторжение трансплантатов сердца [30].

В ряде работ на экспериментальных мышинных моделях *in vivo* было показано, что Th17 клетки играют важную роль в процессах отторжения тканей сердца. Так, блокада IL-17 при помощи терапевтических антител на модели аллотрансплантации сердца у мышей сопровождалась продлением сроков выживаемости трансплантата, что указывало на важную роль данного цитокина, а также клеток-продуцентов в развитии реакций отторжения [31]. Введение лабораторным животным галектина-9, обладающего цитотоксическим действием по отношению Th1 и Th17 клеткам, способствовало увеличению выживаемости аллогенного сердечного трансплантата у мышей [32]. Более того, указанный способ терапии приводил к снижению экспрессии матричной РНК (мРНК) IFN γ и IL-17, а также снижал содержание Th1 и Th17 клеток в периферической крови и региональных лимфатических узлах. Прямые указания на то, что Th17 способны вызывать отторжение сердечного аллотрансплантата, были получены в экспериментах на мышах, лишенных специфического для Th1 фактора транскрипции T-bet [33]. После пересадки несоответствующих по МНС II васкуляризованных сердечных аллотрансплантатов у этих мышей скорость отторжения трансплантата превышала значения, полученные для группы мышей дикого типа. Более того, гистологические исследования выявили явные

признаки васкулопатии, увеличение количества лимфоцитов и нейтрофилов, экспрессирующих IL-17, тогда как блокада IL-17 привела к значительному увеличению выживаемости аллотрансплантата [33].

На модели мышинного гетеротопического трансплантата сердца у мышей-реципиентов, дефицитных по IL-17, наблюдались пониженная инфильтрация воспалительными клетками ткани аллотрансплантата, а также уменьшение продукции провоспалительных IL-6 и MCP-1 и, наконец, снижение выраженности признаков болезни коронарных артерий пересаженного сердца [34]. На экспериментальной модели шейной гетеротопической ТС у мышей было показано, что у мышей-реципиентов, получавших сиртинол, были более низкие уровни экспрессии IL-17A и более высокие уровни экспрессии Foxp3 [35]. В ходе экспериментов *in vivo* сиртинол снижал содержание Th17-клеток и увеличивал долю Treg, а также время выживаемости трансплантата. Еще одним подтверждением важной роли Th17 клеток в реакциях отторжения трансплантатов сердца является эффективность применения ингибиторов сигнального пути JAK2/STAT3, которые задействованы в формировании пула Th17 клеток [36]. Так, применение ингибиторов JAK2/STAT3 сопровождалось снижением уровней мРНК транскрипционного фактора ROR γ t, а также ключевых цитокинов IL-17, IL-6 и TNF- β , равно как и увеличением сроков выживаемости трансплантатов сердца.

Фолликулярные Th, отвечающие за регуляцию специфического гуморального иммунного ответа, также могут принимать непосредственное участие в формировании различных механизмов отторжения трансплантата [37]. Так, у пациентов во время острого отторжения трансплантата сердца были выявлены высокие уровни экспрессии мРНК, IL-21 и α -цепи рецептора для IL-21 внутри трансплантата по сравнению с реципиентами без отторжения [31]. С применением экспериментальных моделей *in vivo* было показано, что IL-21 играет важную роль при развитии хронической васкулопатии сердечного аллотрансплантата, а также важен для протекания острого и ускоренного отторжения кожных и сердечных аллотрансплантатов [38]. Более того, блокада передачи сигнала от IL-21 при помощи IL-21R-Fc предотвращала развитие васкулопатии сердечного аллотрансплантата у мышей дикого типа, что указывает на высокий терапевтический потенциал как самого цитокина, так и фолликулярных Th клеток, способных к его продукции.

Микровезикулы как потенциальный фактор активации хронического отторжения трансплантата

В последние годы было установлено, что отторжение аллографта зависит от переноса внеклеточных везикул (ВВ) от клеток донорского органа, несущих

МНС, к антигенпрезентирующим клеткам реципиента, что приводит к запуску иммунных реакций отторжения [39, 40]. Активация Т-клеток посредством экзосом происходит схожим образом [41, 42]. В настоящее время есть представление о том, что перенос донорских молекул МНС ВВ является ключевым элементом формирования Т-клеточного ответа на интактные донорские белки МНС, приводящего к острой реакции отторжения аллотрансплантата [43].

Вместе с тем, ВВ могут быть факторами развития толерантности к имплантированному аллотрансплантату. Предполагается, что ВВ действуют напрямую на Т-клетки или опосредованно посредством трансфера МНС/пептидных комплексов и коингибиторных рецепторов. Кроме того, ВВ могут нести на себе такие молекулы, как хемокины, цитокины, FasL, микроРНК и т.д., способные влиять на активацию Т-клеток. Например, иллюстрацией участия в алло-реактивности может быть эксперимент, в котором аллогенные экзосомы, экспрессирующие антигены МНС II класса, не смогли запустить *in vitro* пролиферацию и секрецию IFN γ “наивными” Т-клетками [44]. Таким образом, не похоже, что экзосомы могут служить аналогом антигенпрезентирующих клеток для активации наивных Т-клеток. Причинами тому могут служить недостаточный уровень экспрессии молекул МНС, недостаточная костимуляторная функция экзосом и/или их неспособность запускать продукцию адекватного количества цитокинов (например, IL-1). С другой стороны, возможно, что не прямое взаимодействие экзосом с Т-клетками приводит к Т-клеточной анергии и истощению [43].

Предполагается, что присутствие донор-специфичных экзосом, а также изменения в уровне экзосом в процессе реализации реакций отторжения может служить в качестве суррогатного маркера острой или хронической реакции отторжения трансплантированных солидных органов [2, 45].

Например, было показано, что у пациентов после ТС спектр переносимых экзосомами белков существенно менялся в зависимости от выраженности реакций отторжения. Более того, для 15 белков были отмечены значительные отличия, а также прямая взаимосвязь с выраженностью иммунного ответа [46]. Таким образом, анализ белкового спектра циркулирующих экзосом может быть эффективным инструментом мониторинга состояния трансплантированного сердца [2].

Другой важнейшей иллюстрацией может быть работа, в которой было показано, что в реакциях острого клеточного отторжения сердца важную роль играют экзосомы, несущие miR-142-3p. Сокуль-

тивация указанных экзосом, полученных от пациентов с ТС, с эндотелиальными клетками, приводила к нарушению барьерной функции эндотелия [47].

Вместе с тем экзосомы могут выполнять и протективную функцию в отношении трансплантированного сердца. В частности, как это было показано в работе на моделях прогениторных клеток сердца, в которых количественный и качественный состав экзосом менялся и оказывал защитный эффект на ишемизированный миокард [48].

Заключение

Показано, что кишечная микробиота управляет широким спектром провоспалительных и регуляторных Т-клеточных реакций, которые, вероятно, уравновешивают друг друга для поддержания местного гомеостаза. Увеличение относительного содержания патогенных или “провоспалительных” видов бактерий, способных взаимодействовать с эпителиальными клетками кишечника, оказывает непосредственное влияние на проницаемость стенки кишки, вызывает развитие воспалительных реакций путем стимуляции “поляризации” Th0 в сторону “провоспалительных” Th17 и развитие различных заболеваний, в основе патогенеза которых лежит неконтролируемое воспаление.

В настоящее время имеются экспериментальные и клинические данные, указывающие на участие Т-клеточного иммунитета в реакциях отторжения трансплантированного сердца, на участие микробиоты кишечника реципиента в процессах регуляции поляризации Т-клеточного ответа, а также на возможное участие ВВ в процессах презентации алло-антигенов Т-клеткам реципиента и, соответственно, развитии иммунного ответа.

Таким образом, для дальнейшего изучения иммунопатогенеза и разработки алгоритмов неинвазивной диагностики реакций отторжения трансплантированного сердца целесообразно провести комплексные исследования взаимодействия оси иммунная система-кишечник-трансплантированное сердце. В частности, определить вклад микровезикул различного клеточного происхождения как реципиента, так и донорского сердца, на активацию реакций отторжения трансплантата сердца; оценить взаимосвязь между составом микробиоты кишечника и активацией поляризации Т-клеточного ответа при развитии системного воспаления после ТС.

Отношения и деятельность. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 19-75-20076).

Литература/References

- Khush KK, Cherikh WS, Chambers DC, et al. The International Thoracic Organ Transplant Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-sixth adult heart transplantation report — 2019; focus theme: Donor and recipient size match. *J Hear Lung Transplant* [Internet]. 2019;38(10):1056-66.
- Zhou B, Xu K, Zheng X, et al. Application of exosomes as liquid biopsy in clinical diagnosis. *Signal Transduct Target Ther* [Internet]. 2020;5(1). doi:10.1038/s41392-020-00258-9.
- Grosserichter-Wagener C, Radjabzadeh D, Van Der Weide H, et al. Differences in systemic IgA reactivity and circulating th subsets in healthy volunteers with specific microbiota enterotypes. *Front Immunol*. 2019;10(MAR):341.
- Donaldson GP, Lee SM, Mazmanian SK. Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nat Rev Microbiol*. 2015;14(1):20-32.
- Gaboriau-Routhiau V, Rakotobe S, Lécuyer E, et al. The Key Role of Segmented Filamentous Bacteria in the Coordinated Maturation of Gut Helper T Cell Responses. *Immunity*. 2009;31(4):677-89.
- Roy U, de Oliveira RS, Galvez EJC, et al. Induction of IL-22-Producing CD4+ T Cells by Segmented Filamentous Bacteria Independent of Classical Th17 Cells. *Front Immunol* [Internet]. 2021;12.
- Lécuyer E, Rakotobe S, Lengliné-Garnier H, et al. Segmented filamentous bacterium uses secondary and tertiary lymphoid tissues to induce gut IgA and specific T helper 17 cell responses. *Immunity* [Internet]. 2014;40(4):608-20.
- Zhang LL, Chen X, Zheng PY, et al. Oral Bifidobacterium modulates intestinal immune inflammation in mice with food allergy. *J Gastroenterol Hepatol*. 2010;25(5):928-34.
- He B, Hoang TK, Wang T, et al. Resetting microbiota by *Lactobacillus reuteri* inhibits T reg deficiency-induced autoimmunity via adenosine A2A receptors. *J Exp Med* [Internet]. 2017;214(1):107-23.
- Zhang M, Sun K, Wu Y, et al. Interactions between Intestinal microbiota and host immune response in inflammatory bowel disease. *Front Immunol*. 2017;8(AUG):942.
- Round JL, Lee SM, Li J, et al. The toll-like receptor 2 pathway establishes colonization by a commensal of the human microbiota. *Science* (80-) [Internet]. 2011;332(6032):974-7.
- Mazmanian SK, Round JL, Kasper DL. A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease. *Nature*. 2008;453(7195):620-5.
- Ghadimi D, Helwig U, Schrezenmeir J, et al. Epigenetic imprinting by commensal probiotics inhibits the IL-23/IL-17 axis in an in vitro model of the intestinal mucosal immune system. *J Leukoc Biol* [Internet]. 2012;92(4):895-911. doi:10.1189/jlb.0611286.
- Chen L, Zou Y, Peng J, et al. *Lactobacillus acidophilus* suppresses colitis-associated activation of the IL-23/Th17 axis. *J Immunol Res* [Internet]. 2015;2015:1-10.
- Yoon H, Yoon YS, Kim MS, et al. A probiotic preparation duolac-gold ameliorates dextran sulphate sodium-induced mouse colitis by downregulating the expression of IL-6. *Toxicol Res* [Internet]. 2014;30(1):27-32.
- Scher JU, Szczesnak A, Longman RS, et al. Expansion of intestinal *Prevotella copri* correlates with enhanced susceptibility to arthritis. *Elife*. 2013;2013(2):e01202.
- Lee SY, Lee SH, Jhun J, et al. A Combination with Probiotic Complex, Zinc, and Coenzyme Q10 Attenuates Autoimmune Arthritis by Regulation of Th17/Treg Balance. *J Med Food*. 2018;21(1):39-46.
- Sandek A, Bauditz J, Swidsinski A, et al. Altered Intestinal Function in Patients With Chronic Heart Failure. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. 2007;50(16):1561-9.
- Yuzepolskaya M, Bohn B, Nasiri M, et al. Gut microbiota, endotoxemia, inflammation, and oxidative stress in patients with heart failure, left ventricular assist device, and transplant. *J Hear Lung Transplant* [Internet]. 2020;39(9):880-90.
- Luedde M, Winkler T, Heinsen FA, et al. Heart failure is associated with depletion of core intestinal microbiota. *ESC Hear Fail* [Internet]. 2017;4(3):282-90.
- Jenq RR, Taur Y, Devlin SM, et al. Intestinal *Blautia* Is Associated with Reduced Death from Graft-versus-Host Disease. *Biol Blood Marrow Transplant* [Internet]. 2015;21(8):1373-83.
- Bromberg JS, Hittle L, Xiong Y, et al. Gut microbiota-dependent modulation of innate immunity and lymph node remodeling affects cardiac allograft outcomes. *JCI Insight* [Internet]. 2018;3(19).
- Trøseid M, Mayerhofer CCK, Broch K, et al. The carnitine-butyrobetaine-TMAO pathway after cardiac transplant: Impact on cardiac allograft vasculopathy and acute rejection. *J Hear Lung Transplant* [Internet]. 2019;38(10):1097-103.
- Tabibian JH, Kenderian SS. The microbiome and immune regulation after transplantation. *Transplantation* [Internet]. 2017;101(1):56-62.
- Marino J, Paster J, Benichou G. Allorecognition by T lymphocytes and allograft rejection. *Front Immunol* [Internet]. 2016;7(DEC):582.
- Lakkis FG, Arakelov A, Konieczny BT, Inoue Y. Immunologic "ignorance" of vascularized organ transplants in the absence of secondary lymphoid tissue. *Nat Med*. 2000;6(6):686-8.
- Poggio ED, Clemente M, Riley J, et al. Alloreactivity in renal transplant recipients with and without chronic allograft nephropathy. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2004;15(7):1952-60.
- Lee RS, Yamada K, Houser SL, et al. Indirect recognition of allopeptides promotes the development of cardiac allograft vasculopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2001;98(6):3276-81. doi:10.1073/pnas.051584498.
- Askar M. T helper subsets & regulatory T cells: Rethinking the paradigm in the clinical context of solid organ transplantation. *Int J Immunogenet* [Internet]. 2014;41(3):185-94.
- Illigens BM, Yamada A, Anosova N, et al. Dual effects of the alloresponse by Th1 and Th2 cells on acute and chronic rejection of allotransplants. *Eur J Immunol* [Internet]. 2009;39(11):3000-9.
- Tang J-LL, Subbotin VM, Antonysamy MA, et al. Interleukin-17 antagonism inhibits acute but not chronic vascular rejection. *Transplantation* [Internet]. 2001;72(2):348-50. doi:10.1097/00007890-200107270-00035.
- He W, Fang Z, Wang F, et al. Galectin-9 significantly prolongs the survival of fully mismatched cardiac allografts in mice. *Transplantation* [Internet]. 2009;88(6):782-90.
- Yuan X, Paez-Cortez J, Schmitt-Knosalla I, et al. A novel role of CD4 Th17 cells in mediating cardiac allograft rejection and vasculopathy. *J Exp Med* [Internet]. 2008;205(13):3133-44.
- Itoh S, Nakae S, Axtell RC, et al. IL-17 contributes to the development of chronic rejection in a murine heart transplant model. *J Clin Immunol* [Internet]. 2010;30(2):235-40.
- Ye Q, Zhang M, Wang Y, et al. Sirtinol regulates the balance of Th17/Treg to prevent allograft rejection. *Cell Biosci* [Internet]. 2017;7(1):55.
- Zhang M, Xu M, Wang K, et al. Effect of Inhibition of the JAK2/STAT3 Signaling Pathway on the Th17/IL-17 Axis in Acute Cellular Rejection After Heart Transplantation in Mice. *J Cardiovasc Pharmacol* [Internet]. 2021;77(5):614-20.
- van Besouw NM, Mendoza Rojas A, Baan CC. The role of follicular T helper cells in the humoral alloimmune response after clinical organ transplantation. *Hla* [Internet]. 2019;94(5):407-14.
- Khattri M, Baum CE, Schroder P, et al. Interleukin 21 (IL-21) regulates chronic allograft vasculopathy (CAV) in murine heart allograft rejection. *Chatenoud L, editor. PLoS One* [Internet]. 2019;24;14(1):e0225624.
- Muller E. Donor Dendritic Cell-Derived Exosomes Promote Allograft-Targeting Immune Response. *Transplantation*. 2016;100(11):2237.
- Burlingham WJ. "Cross-Dressing" Becomes Fashionable Among Transplant Recipients. *Am J Transplant*. 2017;17(1):5-6.
- Morelli AE, Bracamonte-Baran W, Burlingham WJ. Donor-derived exosomes: The trick behind the semidirect pathway of allorecognition. *Curr Opin Organ Transplant*. 2017;22(1):46-54.
- Gonzalez-Nolasco B, Wang M, Prunevillie A, Benichou G. Emerging role of exosomes in allorecognition and allograft rejection. *Curr Opin Organ Transplant*. 2018;23(1):22-7.
- Benichou G, Wang M, Ahrens K, Madsen JC. Extracellular vesicles in allograft rejection and tolerance. *Cell Immunol* [Internet]. 2020;349(5):104063.
- Marino J, Babiker-Mohamed MH, Crosby-Bertorini P, et al. Donor exosomes rather than passenger leukocytes initiate alloreactive T cell responses after transplantation. *Sci Immunol*. 2016;1(1):1-12.
- Vallabhajosyula P, Korutla L, Habertheuer A, et al. Tissue-specific exosome biomarkers for noninvasively monitoring immunologic rejection of transplanted tissue. *J Clin Invest*. 2017;127(4):1375-91.
- Kennel PJ, Saha A, Maldonado DA, et al. Serum exosomal protein profiling for the non-invasive detection of cardiac allograft rejection. *J Hear Lung Transplant*. 2018;37(3):409-17.
- Dewi IS, Celik S, Karlsson A, et al. Exosomal miR-142-3p is increased during cardiac allograft rejection and augments vascular permeability through down-regulation of endothelial RAB11FIP2 expression. *Cardiovasc Res*. 2017;113(5):440-52.
- Saha P, Sharma S, Korutla L, et al. Circulating exosomes derived from transplanted progenitor cells aid the functional recovery of ischemic myocardium. *Sci Transl Med*. 2019;11(493):eaau1168.